

АЛГОРИТМ КОМПЛЕКСНОГО БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПОДХОДА К ПОЛУЧЕНИЮ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ЯЙЦЕПРОДУКТОВ ДЛЯ ЛИЦ С НАРУШЕНИЯМИ УГЛЕВОДНОГО И/ЛИ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА

В.К. Мазо, А.Ш. Кавтарашвили, И.Л. Стефанова, Е.В. Кропачева

«Всероссийский научно-исследовательский институт птицеперерабатывающей промышленности» – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения Федерального научного центра «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства» Российской академии наук, поселок Ржавки, Российская Федерация, dr.vniipp@mail.ru

Высокая частота проявлений метаболического синдрома, сахарного диабета 2 типа и сопутствующих клинических осложнений определяют актуальность разработки и создания широкого спектра новых функциональных пищевых продуктов (ФПП) для которых имеются доказательства их эффективности при использовании в питании лиц с нарушениями углеводного и/или жирового обмена. Применение разработанных ФПП в питании лиц с указанными нарушениями метаболизма будет способствовать оптимизации диетической профилактики, улучшая качество жизни, здоровье населения и снижая затраты на оказание соответствующей медицинской помощи.

Нами предложен и реализуется алгоритм биотехнологического комплексного подхода, включающего на своих начальных этапах биофортификацию комбикормов кур-несушек путем одновременного обогащения их каротиноидами, селеном, витамином Е, омега-3 полиненасыщенными жирными кислотами, глубокую переработку полученных «функциональных» яиц, обогащенных перечисленными нутриентами, разработку высокоэффективного метода извлечения и концентрирования антоцианов из ягод клюквы, включающего их экстракцию и сорбцию на белковой пищевой матрице - коагулированном яичном белке.

Ниже кратко представлены основные результаты НИР на начальных этапах вышеозначенного биотехнологического подхода.

Биофортификация куриного яйца. Биофортификация (biofortification) - обогащение куриных яиц, путем добавления витаминов и минеральных веществ в корма кур-несушек является современным интенсивно развивающимся биотехнологическим направлением. Биотрансформация добавленных в корма синтетических витаминов в их естественные формы в организме кур является несомненным преимуществом, поскольку полностью лишает аргументов противников обогащения пищевой продукции синтетическими витаминами. Добавлением в корма микроэлементов (селен, йод) достигают их максимального содержания в курином яйце, причем в форме органических соединений, что улучшает их биодоступность для человека при одновременной безопасности. Введение в корма кур полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) семейства ω -3 обеспечивает повышение их концентрации в яйце. Одновременное включение в рацион птиц перечисленных микронутриентов позволяет получить яйцепродукты, обогащенные несколькими эссенциальными микронутриентами, и одновременно предотвратить нежелательное повышение перекисного окисления липидов, вызванное добавлением полиненасыщенных жирных кислот. Соответственно первым этапом нашей НИР явилась разработка различных рационов для кур-несушек с использованием комбикормов для производства пищевых яиц с повышенным содержанием селена, витамина Е и ω -3 ПНЖК. Источником селена в рационах являлись препараты «Сел-Плекс», «Дафс-25» или селенит натрия. В качестве источников ω -3 ПНЖК были использованы 3% льняное масло и 5% жмых семени льна. Наряду с синтетическим витамином Е (DL-альфа-токоферол) применяли смесь нату-

ральных токоферолов (препарат «Жирные кислоты»). Результаты исследования показали, что за 60-суточный период содержания отхода птицы не было, сохранность поголовья во всех группах составила 100%. Живая масса в 140-суточном возрасте, т.е. в начале исследования в группах кур-несушек практически была идентичной. Данные по яйценоскости кур, средней массе яиц, выходу яичной массы на несушку и конверсии корма подтвердили эффективность использованного биофортификационного подхода. В среднем за период исследования обогащенных комбикормов, содержание в яйце (в расчете на 100 г съедобной части) ω -3 ПНЖК составило 655-960 мг при соотношении ω -6 к ω -3 – (2,3-2,9):1; селена – 59,3-61,5 мкг и витамина Е – 6,16-8,82 мг.

Коагуляция белка куриного яйца, его характеристика in vivo. Коагулированный белок куриного яйца (КБКЯ) получен отделением белка от желтка, перемешиванием жидкой белковой массы, подкислением лимонной кислотой с добавлением хлористого натрия, выдерживанием при комнатной температуре в течение 15 минут и последующей тепловой обработкой смеси в одну или две стадии до достижения температуры 86 ± 2 °C при постоянном перемешивании. Сдвиг pH не более чем на 2 единицы осуществлялся за счет внесения органической кислоты в сырье. После этого удалена жидкая фаза и полученный коагулят охлажден и лиофильно высушен.

Результаты исследования in vivo биологической ценности коагулированного белка куриного яйца (КБКЯ), полученного кислотнo-солевым гидролизом и тепловым нагревом показали, что на протяжении всего эксперимента общее состояние всех животных по внешнему виду, качеству шерстного покрова и поведению при ежедневном осмотре было удовлетворительным. При выведении животных из эксперимента при гистологическом исследовании печени, почек и селезенки животных всех групп также не выявлено признаков каких-либо патологических изменений и отличий от архитектоники и структуры клеток изученных органов. Средняя поедаемость корма за весь период для животных, потреблявших казеин, составила $18,4 \pm 0,6$ г, для животных, потреблявших яичный белок (ЯБ) – $19,2 \pm 0,5$ г и для животных, потреблявших КБКЯ – $13,7 \pm 0,6$ г. Прирост массы тела животных, получавших КЯБ, достоверно от животных, получавших казеин, не отличался, при достоверно более низкой потребляемости корма. Определения показателей липидного обмена и глюкозы сыворотки крови не выявило статистических различий таких показателей липидного обмена как холестерин, триглицериды и ЛПНП для всех групп. Значение показателя ЛПВП для животных, получавших КЯБ, было достоверно выше по сравнению с животными, получавшими ЯБ, и при этом находилось в пределах нормы для данного вида животных. Выявленное повышение содержания ЛПВП в сыворотке крови животных, потреблявших КБКЯ, является благоприятным фактором влияния этого белка на липидный обмен. Среднее значение количества КЯБ, потребляемого крысой с кормом за «обменный» периода, было более чем в полтора раза меньше такового для животных, потреблявших стандартный казеиновый рацион и рацион, содержащий ЯБ, а истинная усвояемость всех трех белков при этом практически не различалась. Сравнительные средние значения коэффициента эффективности казеина, ЯБ и КБКЯ показали, что КЭБ у животных, получавших КБКЯ, был значительно и достоверно выше ($p < 0.01$) по сравнению этим показателем для животных, потреблявших казеин – $1,96 \pm 0,04$ и $1,49 \pm 0,05$ соответственно. Совокупность полученных данных свидетельствует о высокой биологической ценности КБКЯ.

Получение пищевой белковой матрицы, обогащенной полифенолами клюквы.

Результаты клинических и экспериментальных исследований, накопленные к настоящему времени мировой нутрициологией, свидетельствуют о гипополипидемическом и гипохолестеринемическом действии широкого спектра полифенольных соединений. Однако эффективность использования пищевых полифенолов для профилактических целей ограничено их низкой биодоступностью, что делает необходимым поиск технологических подходов, направленных на получение ФПИ с возможно более высоким содержанием полифенолов для последующего включения в состав специализированной пищевой продук-

ции. Эффективным способом концентрирования полифенолов является сорбция полифенолов на белковом матриксе. Ранее нами было показано, что сорбция полифенолов на пищевом матриксе – муке коричневой гречки повышала их устойчивость к разложению при высоких температурах и низких значениях pH. Соответственно, нами был разработан технологический подход по обогащению пищевой белковой матрицы (КБКЯ) полифенольными соединениями, извлекаемыми из ягод клюквы. Выбор коагулированного яичного белка был обусловлен его высокой пищевой и биологической ценностью, а ягоды клюквы болотной (*Oxycoccus palustris* Pers.), распространенной в тундровой и лесостепной зонах европейской части России, в Сибири и на Дальнем Востоке, как известно, содержат широкий комплекс полифенольных соединений, органических и фенольных кислот, терпенов, витаминов и минеральных веществ.

Гранулометрические характеристики лиофильно высушенного КБКЯ определены методом электронно-сканирующей микроскопии. Измельчение на лабораторной мельнице и просеивание через сита образцов уменьшило среднее значение медианного размера частиц от 337,5 до 149,0 мкм соответственно. Содержание общих полифенолов в пересчете на галловую кислоту определяли спектрофотометрически методом Фолина-Чокальтеу. Суммарное содержание антоцианинов в пересчете на цианидин-3-глюкозид оценивали методом pH-дифференциальной спектрофотометрии. Профиль индивидуальных антоцианинов определяли по ГОСТ 32709-2014 методом ВЭЖХ. Обработку данных осуществляли с помощью программного обеспечения ChemStation for LC 3D Systems версии (B.04.03 16). Содержание простых сахаров (глюкозы и фруктозы) определяли методом ОФ ВЭЖХ с рефрактометрическим детектированием. Полифенолы клюквенного сока (КС) из 100 мл водного раствора КС различной концентрации сорбировали на 10 г КБКЯ. По окончании инкубации и центрифугирования супернатант отделяли от осадка методом декантирования и осадок лиофильно высушивали. Сорбцию общих полифенолов и антоцианинов рассчитывали по разности их содержания в исходных растворах и супернатантах. Удельное содержание общих полифенолов и антоцианинов в составе лиофильно высушенного осадка определяли, проводя их последовательное троекратное элюирование. Элюирование вели 1% раствором соляной кислоты в 80% этиловом спирте, при температуре 55 градусов с обработкой ультразвуком в течение 5 минут. С увеличением концентрации КС в его водном растворе (от 10% до 100%), удельная сорбция общих полифенолов и антоцианинов нарастала практически линейно. Удельная максимальная сорбция общих полифенолов и антоцианинов (для 100% сока) составили 14,0 мг-экв.г.к./г и 1,48 мг/г соответственно.

Фенольные соединения в составе соков ягод и фруктов обладают высокой биодоступностью и хорошо сохраняются. Однако высокое содержание простых углеводов в составе сока существенно снижает возможности его использования в профилактическом питании лиц с нарушениями углеводного обмена. Сорбция простых углеводов (глюкоза + фруктоза) на КБКЯ, составила $(30,3 \pm 3,1)$ % от их исходного содержания в КС. В полученной пищевой матрице, соотношение общие полифенолы/простые углеводы увеличилось в 2,7 раза по сравнению с аналогичным показателем для клюквенного сока.

Заключение. Представленные результаты будут использованы при реализации последующих этапов НИР, а именно для масштабирования разработанной технологии получения ФПИ, обогащенных антоцианинами и одновременно содержащих минимальные количества легко усвояемых простых углеводов, медико-биологическое обоснование состава и разработку технологии ФПП, масштабирование технологии и получение опытно-промышленной партии ФПП, комплексную экспериментальную оценку соответствия физико-химических, органолептических, микробиологических и санитарно-химических показателей разработанных ФПП установленным требованиям качества и безопасности, апробацию ФПП в клинических условиях и разработку рекомендаций по использованию прошедших апробацию функциональных яйцепродуктов в питании лиц с нарушениями углеводного и/или жирового обмена.

Работа выполнена при финансовой поддержке Гранта РНФ 16-16-04047-П.